

SEROLOGY OF SYPHILIS

SÉROLOGIE DE LA SYPHILIS

INTRODUCTION

The spectacular success of penicillin in the individual and mass treatment of the treponematoses is a frequently quoted achievement of modern public health practice. It is therefore not surprising that penicillin therapy has overshadowed other developments in the control of syphilis, yaws, and pinta, and particularly the considerable progress made in laboratory techniques. For example, more sensitive and more specific serological procedures have become available through the introduction of better defined lipoidal and other antigens, and these have resulted in improvements in the qualitative and quantitative complement-fixation and flocculation methods for the determination of the reagins found in the body-fluids of the host-reactor infected with *Treponema pallidum*, *T. pertenuis*, or *T. carateum*.

The effectiveness of treponematoses-control programmes continues to depend upon the efficient performance of routine serological tests of the reagin type, both for the appraisal of treatment for syphilis given in clinics or by individual physicians, and for the evaluation of results of mass treatment campaigns against endemic syphilis or yaws in the pilot areas of such programmes. In this number of the *Bulletin*, the technical improvements in serological procedures in the treponematoses, and the implications of the findings, are reviewed by Rein & Reyn. The present status of serological tests for syphilis, including the advantages and disadvantages of the various tests now in common use, is considered by Harris & Olansky. These and other papers on serology in the treponematoses published in previous issues of the *Bulletin* are elements in the WHO programme, initiated in 1948, to co-ordinate research, to study the practical application of laboratory results in the treponematoses, and to establish international standards of reference preparations of reagents through its biological standardization activities.

As a result of the co-operation of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health, USA, with the Subcommittee on Serology and Laboratory Aspects of the WHO Expert Committee on Venereal Infections and Treponematoses, the Expert Committee on Biological Standardization, and various laboratories participating in the WHO programme, International Reference Preparations of cardiolipin and lecithins have now been established. Thus, laboratories throughout the world can now obtain these international reference preparations and

only accept for use those nationally produced preparations which have the same serological reactivity as the international reference preparations. A monograph on this subject has been published by WHO.¹

An additional major international development has been the establishment of a bank of international reference preparations of freeze-dried reactive sera, so that the qualitative and quantitative aspects of reagin determinations in unknown samples can be expressed with greater certainty on a comparative basis between laboratories in different countries. In the past few years, complex studies on this subject have been undertaken by 18 co-operating laboratories, and it is expected that international reference preparations of freeze-dried reactive sera will become available to national laboratories from the Statens Serum Institut, Copenhagen, during 1956 or 1957.

The work outlined above has entailed studies over several years and extensive co-ordination of research. In this respect, WHO has been guided by the advice of the above-mentioned WHO Subcommittee on Serology and Laboratory Aspects.² Two major laboratories—namely, the Statens Serum Institut, Copenhagen, Denmark, and the Venereal Disease Research Laboratory (US Public Health Service), Chamblee, Ga., USA—have functioned as International Serological Reference Centres in the WHO programme, and are in constant contact with a chain of laboratories in various parts of the world. The work has been co-ordinated under the able guidance of Dr P. Krag, Director, Serodiagnostic Department, Statens Serum Institut (WHO International Serological Reference Laboratory), Copenhagen.³

Whether the reagins found with routine serological tests by the use of "artificial" antigens (however well the latter may be chemically defined, as is now the case with cardiolipin) are "true" antibodies is a question which has long been disputed, and much research has been carried out in several laboratories to investigate the immunobiological factors in the interplay between the treponemes and the host. At the same time, the nature and incidence of biologically false positive serological reactions found with routine serological methods as a transient or constant phenomenon in medical conditions other than those caused by treponemes have been studied. New laboratory methods have resulted from the research carried out at the International Treponematoses Laboratory Center, Johns Hopkins University, USA, by Turner and his group. A monograph on the developments of these and other laboratory methods used in the study of the biology of the treponematoses will shortly be published by WHO.⁴

¹ Pangborn, M. C. et al. (1955) *Cardiolipin antigens: preparation and chemical and serological control*, 2nd ed., Geneva (World Health Organization: Monograph Series, No. 6)

² *Wld Hlth Org. techn. Rep. Ser.* 1950, 14, 1951, 33; 1954, 79

³ Formerly Medical Officer, WHO Headquarters, Geneva (Venereal-Disease and Treponematoses and Biological Standardization Sections)

⁴ Turner, T. B. & Hollander, D. H. (1956) *Biology of the treponematoses*, Geneva (World Health Organization: Monograph Series, No. 35) (in preparation)

Some antigenic elements in the treponemes themselves can now be defined, and the immunological responses of the host determined. Thus, the practical importance of the *T. pallidum* immobilization (TPI) test, first introduced by Nelson & Mayer in 1949, has been shown by its ready acceptance in major laboratories the world over. In this issue of the *Bulletin*, the question of diagnosing biological false positivity in persons with no clinical or anamnestic evidence of syphilis has been presented by Kostant, while Olansky & Price discuss more specifically the modern diagnosis of syphilis. All these authors believe the TPI test to be the most accurate verification procedure for diagnosis, but not a test for cure.

The development of laboratory techniques in the study of the treponematoses has been slow, since it has not been possible to cultivate the treponemes on artificial media. Techniques to maintain treponemes alive on artificial media (for as much as two weeks, without multiplication) and methods to mass produce in the laboratory animal relatively pure tissue-free treponemal antigens have all resulted in a reorientation in outlook concerning the treponemal diseases. Work on tests using killed pathogenic treponemes or extracts of such are under development. These tests include *T. pallidum* agglutination (TPA), immune-adherence (TPIA), and *T. pallidum* complement fixation (TPCF). Certain qualitative and quantitative aspects of the TPI test and its techniques are discussed by Nielsen & Reyn, and the usefulness of the TPA test is considered by Magnuson & McLeod. The immune-adherence phenomenon and its present place in the serological diagnosis of treponematoses are the subject of a paper by Daguet.

In the extensive research programme sponsored by WHO and in which a number of laboratories in various parts of the world have co-operated, problems have obviously arisen in the postal transmission of blood and serum samples for testing purposes. These questions are discussed by Price.

It is clear that the laboratory aspects of the treponematoses-control programme are undergoing important developments at the present time, and it is believed that laboratory methods which are simpler, more specific, more sensitive, and perhaps less costly than those currently used may become available in the future.

INTRODUCTION

Le succès du traitement individuel ou collectif des tréponématoses par la pénicilline est cité souvent comme l'une des réussites modernes les plus remarquables dans le domaine de la santé publique. Il a même été si brillant qu'il a relégué dans l'ombre certains autres progrès dans les méthodes de lutte contre la syphilis, le pian ou le mal del pinto, en particulier les techniques sérologiques. Il serait injuste d'oublier que la

mise au point de substances lipoïdiques mieux définies, ainsi que celle d'autres antigènes, rendant les tests plus sensibles et plus spécifiques, ont amélioré les méthodes qualitatives et quantitatives de fixation du complément et de floculation qui permettent de mettre en évidence les réagines présentes dans les liquides physiologiques des sujets infectés par *Treponema pallidum*, *T. pertenue* et *T. carateum*.

L'efficacité et la fidélité des épreuves sérologiques pour la recherche des réagines sont une des conditions du succès de la lutte contre les tréponématoses, qu'il s'agisse d'estimer la valeur du traitement en dispensaire ou en clientèle privée ou d'évaluer le résultat de campagnes entreprises parmi de vastes groupes de population dans les zones de démonstration.

Les perfectionnements des techniques sérologiques appliquées aux tréponématoses et leurs conséquences sont passés en revue dans ce numéro du *Bulletin* par Rein & Reyn. Les avantages et inconvénients des tests courants employés dans le diagnostic de la syphilis sont discutés par Harris & Olansky. La publication de tels articles, dans ce numéro ou dans des numéros antérieurs du *Bulletin*, sur le diagnostic sérologique de la syphilis fait partie intégrante du programme entrepris par l'OMS depuis 1949 et qui comporte la coordination des recherches, l'application pratique des études de laboratoire, l'établissement d'étalons internationaux et de préparations internationales de référence pour les réactifs sérologiques, par les organismes chargés de la standardisation biologique.

C'est ainsi que des préparations internationales de référence de cardiolipine et de lécithine pour essais sérologiques ont été établies, grâce à la collaboration de la Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health, Etats-Unis d'Amérique, du Sous-Comité de la Sérologie et des Techniques de Laboratoire du Comité d'experts des Maladies vénériennes et des Tréponématoses (OMS), du Comité d'experts pour la Standardisation biologique (OMS) et de divers laboratoires participant à l'activité de l'OMS. Ces préparations de référence sont maintenant à la disposition des laboratoires nationaux, qui ont désormais la faculté de n'accepter pour leur usage que des composants antigéniques dont la réactivité est identique à celle des préparations internationales de référence. Une monographie sur ces composants antigéniques a été publiée par l'OMS.¹

En outre, une banque de préparations internationales de référence de sérums desséchés sous congélation a été instituée. Grâce à ces sérums de référence, il est possible d'exprimer avec plus de précision la teneur en réagines de sérums inconnus et de comparer les résultats obtenus dans divers laboratoires. Au cours des dernières années, dix-huit laboratoires ont entrepris des recherches sur ce sujet et l'on peut espérer qu'en 1956 encore ou en 1957, le Statens Seruminstitut, de Copenhague, pourra mettre

¹ Pangborn, M. C. & al. (1955) *Cardiolipin antigens: preparation and chemical and serological control*, 2nd ed., Geneva (World Health Organization: Monograph Series, No. 6). En anglais seulement.

à la disposition des laboratoires nationaux des préparations internationales de référence de sérums lyophilisés destinés aux épreuves sérologiques.

Ces diverses acquisitions ont demandé des années d'étude et de coordination. L'OMS a bénéficié, dans ce secteur d'activité, des avis techniques du Sous-Comité de la Sérologie et des Techniques de Laboratoire, déjà nommé.¹ Deux grands laboratoires — le Statens Seruminstitut, de Copenhague, et le Venereal Disease Research Laboratory (US Public Health Service), Chamblee, Ga., Etats-Unis d'Amérique — ont assumé les fonctions de centres internationaux de référence pour la sérologie, dans le cadre du programme de l'OMS, et sont en relation régulière avec un réseau de laboratoires dans différentes parties du monde. Le travail de coordination a été effectué sous la direction du Dr P. Krag, Directeur du Service de Sérodiagnostic, Statens Seruminstitut (Laboratoire central de référence de l'OMS pour la sérologie), Copenhague.²

Les épreuves sérologiques courantes utilisant des antigènes « artificiels » — cet adjectif désignant même des substances chimiquement définies telles que la cardioline — mettent en évidence des réagines. Celles-ci sont-elles de « vrais » anticorps ? On discute encore ce problème et de nombreuses recherches tentent d'élucider les rapports immunologiques entre les tréponèmes et leurs hôtes. On a étudié aussi les fausses réactions positives causées, de façon passagère ou persistante, par certains états morbides autres que les tréponématoses. De nouvelles méthodes de laboratoire ont été élaborées à la suite des recherches effectuées à l'International Treponematoses Laboratory Center, Johns Hopkins University, Baltimore, Etats-Unis d'Amérique, par Turner et ses collaborateurs. Une monographie sera publiée prochainement par l'OMS³ au sujet de ces méthodes et d'autres encore qui sont appliquées à l'étude biologique des tréponématoses. Certains composants antigéniques des tréponèmes ont pu être définis et les réactions immunologiques de l'hôte déterminées. L'empressement avec lequel des laboratoires parmi les plus grands du monde ont accepté le test d'immobilisation du tréponème (TPI) introduit par Nelson & Mayer en 1949, témoigne de l'intérêt que présente cette nouvelle épreuve. La question de l'origine des fausses réactions positives chez les personnes qui n'ont ni symptômes ni antécédents syphilitiques est présentée par Kostant dans ce numéro du *Bulletin*. Olansky & Price discutent plus spécialement le diagnostic de la syphilis tel qu'il se présente actuellement. Tous ces auteurs considèrent le test TPI comme le plus sûr pour vérifier le diagnostic, mais non pour orienter le traitement.

Les progrès des techniques de laboratoire dans l'étude des tréponématoses ont été lents, car il n'a pas été possible, jusqu'à maintenant, de

¹ *Org. mond. Santé : Sér. Rapp. techn.* 1950, 14; 1951, 33; 1954, 79

² Anciennement membre de la Section des Maladies vénériennes et des Tréponématoses et de la Section de Standardisation biologique, OMS, Genève

³ Turner T. B. & Hollander, D. H. (1956) *Biology of the treponematoses*, Geneva (World Health Organization : Monograph Series, No. 35) en préparation

cultiver le tréponème sur milieu artificiel. Les procédés utilisés pour maintenir cet organisme en vie sur milieu artificiel — pendant deux semaines au maximum sans multiplication — et les méthodes de production en grand sur l'animal d'expérience d'antigènes tréponémiques pratiquement exempts de substances tissulaires ont modifié l'angle sous lequel on avait coutume de considérer les tréponématoses.

On poursuit les travaux sur l'emploi dans les réactions sérologiques de tréponèmes pathogènes tués ou d'extraits de ces organismes. Ces tests concernent l'agglutination de *Treponema pallidum* (TPI), l'immune-adhérence (TPIA) et la fixation du complément de *T. pallidum* (TPCF).

Certains aspects qualitatifs et quantitatifs du test TPI et ses techniques d'exécution sont envisagés par Nielsen & Reyn et l'utilité du test TPA par Magnuson & McLeod. Daguet expose certains des aspects du test d'immune-adhérence et d'adhérence-disparition (AD) et son rôle dans le diagnostic.

L'envoi par la poste d'échantillons de sang et de sérum sous différents climats est une des questions qu'a soulevées l'échange de matériel entre laboratoires de diverses parties du monde, dans le cadre des recherches encouragées par l'OMS. Price discute les risques et énumère les précautions à prendre pour éviter l'altération des échantillons au cours du transport.

Il est indubitable que les méthodes de laboratoire adoptées dans la lutte contre les tréponématoses sont actuellement en pleine évolution. On peut espérer que les recherches en cours conduiront à des méthodes plus simples, plus spécifiques, plus sensibles et peut-être moins coûteuses que celles qui sont actuellement en usage.
